Einfluß von Vitamin C auf Infektionsanfälligkeit, Steroidhaushalt und Blutbild beim Meerschweinchen

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

—

vorgelegt von

Oskar Stierkorb

—

Saarbrücken

1971

—

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität des Saarlandes, Homburg (Saar)
Direktor: Prof. Dr. med., Dr. phil., Dipl. chem. W. ZIMMERMANN

Einfluß von Vitamin C auf Infektionsanfälligkeit, Steroidhaushalt und Blutbild beim Meerschweinchen.

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

Homburg 1971

vorgelegt von

Oskar Stierkorb

geb. am 11.4.1943 in Erxleben

Dekan: Prof. Dr. med. H. KULENKAMPFF

Referent: Prof. Dr. med., Dr. phil., Dipl. chem. W. ZIMMERMANN

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 1.4.1971 abgelegt.

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

Gliederung

	Seite
Einleitung	2
Methodik und Material	4
Vorversuche	4
Hauptversuch	6
Ergebnisse	1o
Absterbefolge im Vorversuch	1o
Absterbefolge im Hauptversuch	11
Gewicht	13
Temperatur	13
Blutbild	14
Gesamtleukozyten	14
Differentialblutbild	15
Ausscheidung von 17-KS im Urin	18
Ausscheidung von 17-ketogenen Steroiden im Urin	21
Quotient zwischen katabolen und anabolen Hormonen im Urin	24
17-Ketosteroide im Plasma	26
Freie und gebundene Corticoide im Plasma	28
Quotient zwischen katabolen und anabolen Hormonen im Plasma	3o
Diskussion	32
Einfluß von Vit. C auf die NNR	32
Infektion und Blutbild	37
Infektion und Resistenz	38
Zusammenfassung	41
Schrifttum	42
Lebenslauf	52

Einleitung.

Die alte Streitfrage, ob Vitamin C eine prophylaktische oder gar therapeutische Wirkung bei Infektionskrankheiten auszuüben vermag, wird seit langem heftig diskutiert. Besonders amerikanische (SPARE F.J.) und britische (WALKER G.H., M.L. BYROM und D.A. TYRELL) Diätetiker kamen in den letzten Jahren zu der Auffassung, daß diese besonders bei Erkältungskrankheiten überschätzt wurde (67, 71).

Die Ascorbinsäure gehört zu den biochemischen Redoxsystemen. Ihre Bedeutung liegt in ihrer Rolle als Elektronendonator und-akzeptor. Die eigentliche Wirkform scheint die Semidehydroascorbinsäure zu sein, die eine außerordentlich wirksame Zwischenstufe zwischen Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure darstellt.

Die Spekulationen über die physiologische Wirkung von Vitamin C bei Infektionskrankheiten reichen von einer einfachen Inaktivierung von Toxinen, über die Steigerung des Komplementtiters bis zu einer indirekten Erhöhung des phagozytären Potentials der Leukozyten. Diese Erhöhung des phagozytären Potentials soll auf einer direkten Beteiligung der l-Ascorbinsäure an der Biosynthese der Kortikosteroide und deren Einfluß auf das mesenchymale System beruhen.

Nach WAGENER (1953) definiert man Infektionsresistenz als genotypisch-konstitutionell bedingte, unspezifische Widerstandsfähigkeit gegenüber verschiedenen Infekten, die bei Rassen oder

Einzelindividuen einer an sich empfänglichen Spezies anzutreffen ist, die aber durch innere und äußere Einflüße, also phänotypisch-konditionell ihrem Grad nach wandelbar ist. Sie ist nicht an eine vorher stattfindende Berührung mit einem spezifischen Antigen gebunden (7o).

Eine besondere Rolle bei der unspezifischen Resistenz kommt den Hormonen der Nebennierenrinde zu. Durch Beeinflußung des Mesenchyms sind diese Hormone an der Differenzierung ruhender Mesenchymzellen zu aktiven Abwehrorganen beteiligt.

Der Grad der Infektionsresistenz scheint dabei der Größe des Abbaus von Hormonen zu 17-Ketosteroiden, nicht aber der Menge der von der Nebenniere produzierten Hormone proportional zu sein (31).

Zimmermann W. (1957) fand die Resistenz gegen Infektionen bei verminderter 17-Ketosteroidausscheidung erniedrigt. Eine Wirkung auf die Antigen-Antikörperreaktion wurde von ihm verneint (76).

Als Maß für die Infektionsresistenz nennen ZIMMERMANN und Mitarbeiter das Verhältnis von katabolen zu anabolen Hormonen: Bei einem Überwiegen der anabolen Hormone ist nach diesen Autoren die Prognose günstiger (9, 72, 73, 75).

Methodik und Material.

Für unsere Versuche verwendeten wir 12o männliche und 12o weibliche erbreine Meerschweinchen vom Stamm "pirbright white". Das Gewicht der Tiere lag zwischen 3oo g und 5oo g; das mittlere Gewicht betrug 4co g.

Das Futter bestand aus "Meerschweinchenfutter M" der Firma Juchem/ Eppelborn sowie Wasser ad libitum.

Zur Vermeidung von Umstellungsreizen und einer sich möglicherweise daraus ergebender Verfälschung der Versuchsergebnisse wurden die Tiere 3 Wochen vor Versuchsbeginn in zugfreien Räumen bei einer Temperatur von 2o bis 22°C unter konstanten Bedingungen gehalten (17). Infizierte und nicht infizierte Tiere wurden streng getrennt untergebracht.

I. Vorversuche

In den Vorversuchen mit je 4o männlichen und weiblichen Meerschweinchen untersuchten wir die Auswirkung der Infektion auf die mittlere Überlebensdauer, die Belastbarkeit der Tiere mit l-Ascorbinsäure sowie das Verhalten der infizierten Tiere unter der Zufuhr von l-Ascorbinsäure.

a) Als Keim benutzten wir den für Nagetiere pathogenen, nur schwach virulenten Stamm Salmonella typhimurium S 7.
Mit diesem Keim beimpften wir Schrägagar (nach Kligler). Nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C schwemmten wir die Bakterienkulturen mit 2 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung ab. (nach Dumas)(14)

Durch weiteres Hinzufügen von physiolog. NaCl wurde diese Abschwemmung 1/15, 1/2o, 1/3o, 1/5o und 1/8o verdünnt. Die Infektion erfolgte durch nucheale subcutane Injektion von 1 ml der verdünnten Abschwemmung.

Da sich diese Arbeit mit unspezifischen Abwehrvorgängen befassen soll, mußte die Infektionsdosis so bemessen sein, daß 5o % der Versuchstiere vor dem Einsetzen der Antikörperbildung gestorben waren. Dieser spezifische Abwehrvorgang ist etwa ab dem 8. - 1o. Tag nach Setzen der Infektion nachweisbar.

Bei der Verdünnung 1/15 ergab sich eine ST_{50} (survival time) von 7,5 Tagen.

Um diese Infektionsdosis im Hauptversuch reproduzieren zu können, führten wir eine Keimzählung durch ($6,8 \times 1o^8$ Keime/ml). Als relatives Maß benutzten wir die Extinktion im Eppendorf-Photometer (o,384).

b) Für den Belastungsversuch stellten wir eine 1/3 molare, der Körperflüssigkeit isotone, sterile l-Ascorbinsäurelösung her, In 1oo ml Lösung waren also 5,8 g l-Ascorbinsäure enthalten.
3 Tiere erhielten je 1 ml der Lösung, d.h. 58 mg Vit.C./die.
3 Tiere erhielten je 3/4 ml der Lösung, d.h. 43,5 mg Vit.C/die.
3 Tiere erhielten je 1/2 ml der Lösung, d.h. 29 mg Vit.C/die.
Die Applikation erfolgte intraperitoneal.
Die verschiedenen Dosen wurden von allen Tieren gut vertragen.
Da Vitamin C im Überschuß appliziert werden sollte, kontrollierten

wir die Ausscheidung im Urin. Die Bestimmung erfolgte mit 2,6-Dichlorphenol-Indophenol-Natrium der Firma Merck. Bei dieser Methode reduziert die l-Ascorbinsäure 2,6-Dichlorphenol-Indophenol-Natrium, einen blauen, in saurer Lösung roten Farbstoff, zur farblosen Leukoverbindung des Indophenols (5).

Jene Meerschweinchen, die 58 mg/die bzw. 43,5 mg/die Vit. C erhalten hatten, schieden Vit. C aus. Für den Hauptversuch wählten wir darum die Dosis 58 mg/die.

c) Bei weiteren 1o Tieren prüften wir die Zusammenwirkung von Infektion und l-Ascorbinsäure.

II. Hauptversuch

Für den Hauptversuch teilten wir die Tiere in die folgenden 4 Gruppen ein:

Kontrollgruppen:

Gruppe I	Kontrolltiere	: 2o
Gruppe II	Vit. C behandelte Tiere	: 4o
Gruppe III	infizierte Tiere	: 5o

Hauptversuchsgruppe:

Gruppe IV	Vit. C behandelte und infizierte Tiere	: 5o
	Zusammen	: 16o Tiere

Männliche und weibliche Tiere wurden wohl getrennt untergebracht; eine getrennte Untersuchung wurde jedoch nicht durchgeführt, da sich im Verlaufe der Vorversuche keine Unterschiede in der mittleren Überlebenszeit und in der Vit. C-Verträglichkeit zeigten.

3 Tage vor Beginn des Hauptversuches begannen wir, den Tieren der Gruppen II und IV je 1 ml einer 1/3 molaren l-Ascorbinsäurelösung täglich intraperitoneal zu injizieren. Da diese Manipulation für die Tiere sicherlich einen nicht genau meßbaren Stress bedeutet, applizierten wir den Tieren der Gruppen I und III je 1 ml steriler physiologischer NaCl-Lösung täglich ebenfalls intraperitoneal.

Die Infektion führten wir mit der bereits im Vorversuch getesteten auf 1/15 verdünnten Salmonellenabschwemmung durch.

In Stichproben entnahmen wir später einigen moribunden Tieren Blut, aus dem wir auf Brillantgrün-, Endo- und Leifsonplatten Salmonella-typhimurium anzüchten konnten. Die Diagnose wurde durch Agglutination und bunte Reihe bestätigt.

Aus jeder Gruppe wurden 2o Tiere in Stoffwechselkäfige gesetzt. Wir gaben täglich 1 % konzentrierten Eisessig in die Urinsammelgefäße, um die bakterielle Zersetzung des Harnes zu verhindern. Die Menge des 24-Stundenurins wurde protokolliert. Nach Filtierung froren wir den Urin bis zur späteren Hormonanalyse ein.

Die 17-Ketosteroide im Urin bestimmten wir nach der Methode von ZIMMERMANN (84), die 17-ketogenen Steroide nach der Methode von NORYMBERSKI et. al../46.

Die übrigen Tiere hielten wir in einfachen Holzkäfigen. 2o Meerschweinchen der Gruppe II sowie je 3o der Gruppen III und IV dienten der Steroidanalyse im Plasma.

In Äthernarkose entnahmen wir täglich je 3 Tieren der Gruppen II, III und IV, sowie jeden 2. Tag 3 Tieren der Gruppe I Blut durch sterile Herzpunktion. Das mit Citrat versetzte Blut wurde gruppenweise gepoolt und zentrifugiert. Das abgetrennte Plasma froren wir ein.

Die Bestimmung der 17-Ketosteroide im Plasma erfolgte nach der Methode von ZIMMERMANN, modifiziert nach Kaiser und Oertel (85). Die freien und gebundenen Corticoide bestimmten wir nach vorausgegangener enzymatischer Hydrolyse nach PORTER und SILBER (48, 36).

Zu Beginn und am Ende des Hauptversuches wurden die Tiere gewogen und das Durchschnittsgewicht errechnet.

Täglich wurde bei allen Tieren die rektale Temperatur gemessen. Dazu benutzten wir ein elektronisches Meßgerät, mit welchem innerhalb von 5 - 1o sec. die Temperatur der Rektalschleimhaut mit einer Genauigkeit von $\pm$ o,1 ^{o}C bestimmt werden konnte.

Bei je 3 Meerschweinchen einer jeden Gruppe nahmen wir täglich eine Zählung der Gesamtleukozyten vor und fertigten ebensoviele Differentialblutbilder an.

Zur statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse übertrugen wir die gemessenen Werte auf einen 5-Kanal-Lochstreifen, der im Rechenzentrum Saarbrücken nach dem dort vorliegenden Programm bearbeitet wurde.

Die Mittelwertsunterschiede in einer Meßgröße zwischen den vier Versuchsgruppen während der gesamten Versuchsdauer wurden nach

dem t-Test berechnet. Die p-Werte entnahmen wir den WISSENSCHAFTLICHEN TABELLEN von GEIGY (12). Sie erscheinen in den folgenden Abschnitten als Signifikanzgrenzen p= o,o5, p= o,o1, p= o,oo5 und p= o,oo25.

Die Berechnung von Korrelationskoeffizienten innerhalb einer Versuchsgruppe zwischen den verschiedenen Meßgrößen wurden ebenfalls durchgeführt. Sie gestatten eine Aussage über ein gleichsinniges Verhalten der verschiedenen Meßgrößen während der gesamten Versuchsdauer. Wir nahmen eine statistisch gesicherte Abhängigkeit zwischen zwei verglichenen Zahlenpaaren dann an, wenn der Korrelationskoeffizient die Irrtumswahrscheinlichkeit von 2 = o,o5 überschritt. Diese Signifikanzschranken entnahmen wir ebenfalls den WISSENSCHAFTLICHEN TABELLEN von GEIGY (12).

ERGEBNISSE

Bei einer Infektionsdosis von 6,8 x $1o^8$ Bakterien (S typhimurium) hatten die infizierten Tiere im Vorversuch eine mittlere Überlebenszeit ST_{50} von 7,5 Tagen.

Tabelle 1

Absterbefolge im Vorversuch:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1o	Tage
5 männliche Tiere						X	X	X			
5 weibliche Tiere		X	X					X		X	

Im Hauptversuch lag die ST_{50} der infizierten Tiere (Gruppe III) bei 7 Tagen, die ST_{20} bei 16 Tagen.

Die mit l-Ascorbinsäure behandelten, infizierten Tiere (Gruppe IV) hatten eine ST_{50} von 9,5 Tagen, sowie eine ST_{20} von ebenfalls 16 Tagen.

Aus Abbildung 1 ist zu ersehen, daß bei Gruppe III ebenso wie bei Gruppe IV die Absterbekurve zwischen dem 4. und 7. Tag am steilsten verläuft.

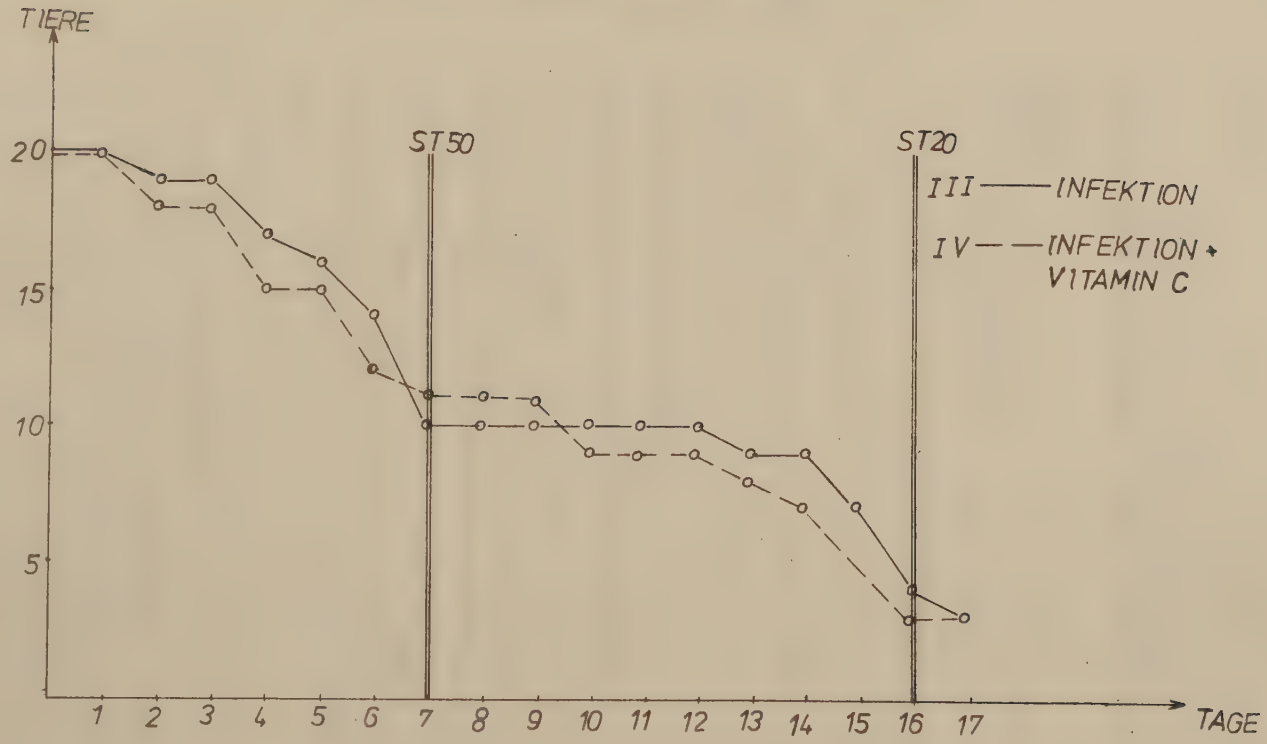
Einen zweiten negativen Höhepunkt erlebten wir zwischen dem 13. und 16. Tage des Infektionsablaufes.

Am Ende der Beobachtungszeit nach 16 Tagen lebten von den Gruppen III und IV noch je 4 Meerschweinchen (2o %).

Absterbefolge im Hauptversuch:

	Gruppe III (Inf.) 2o T.	Gruppe IV (Inf.+Vit.C) 2o T.
1. Tag		
2. Tag	X	XX
3. Tag		
4. Tag	XX	XXX
5. Tag	X	
6. Tag	XX	XXX
7. Tag	XXXX	X
8. Tag		
9. Tag		
1o. Tag	X	X
11. Tag		
12. Tag		
13. Tag	X	X
14. Tag	X	
15. Tag		XX
16. Tag	XXXX	XXX

ÜBERLEBENSZEIT im HAUPTVERSUCH



Gewicht

Tabelle 3

Mittleres Gewicht in g.

	Anfangsgewicht	Endgewicht	Billanz
Gr. I unbehandelt	406	407	+ 1
Gr. II Vitamin C	390	404	+ 14
Gr. III Infektion	406	323	- 83
Gr. IV Inf. + Vit.C	390	330	- 60

Bei der Gewichtskontrolle zu Beginn und am Ende des Hauptversuches ergab sich, daß die unbehandelte Gruppe I fast unverändert schwer geblieben war, während wir bei der mit Vitamin C behandelten Gruppe II eine leichte Gewichtszunahme registrierten.

Bei beiden infizierten Gruppen trat ein starker Gewichtsverlust ein, obwohl auch hier die Vitamin C behandelte Gruppe III günstiger lag, als die nur infizierte Gruppe IV.

Temperatur

Tabelle 4

Temperaturmessung in ^{o}C:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. Tag
Gr. I Unbeh.	37,8	37,7	37,7	37,9	37,8	37,8	37,7
Gr. II +Vit.C	37,6	37,6	37,6	37,5	37,8	37,7	37,6
Gr. III Infektion	38,5	38,5	38,1	39,o	39,o	38,9	38,9
Gr. IV Inf.+Vit.C	38,2	39,6	38,5	38,o	38,o	37,8	38,1

Die in Tabelle 4 angegebenen Temperaturen sind Mittelwerte aus jeweils 1o Einzelmessungen. In der Gruppe I schwanken die Temperaturen zwischen 37,o und 38,2 °C. Das entspricht den in der Literatur für Meerschweinchen angegebenen Normalwerten (35). In der Gruppe II lagen die Temperaturen zwischen 37,1 und 38,1 °C, in der Gruppe III zwischen 35,o und 41,o °C, sowie in Gruppe IV zwischen 37,2 und 4o,8 °C.

Die statistische Auswertung ergab, daß die mittleren Temperaturen nach der Infektion signifikant gegenüber den Werten der Gruppe I erhöht waren: für die Gruppe III liegt die Signifikanzgrenze bei p= o,ooo5, für die Gruppe IV bei p= o,o25.

Auch gegenüber der Gruppe II war eine Temperaturerhöhung der infizierten Gruppe III signifikant, p= o,ooo5.

Blutbild

a) Gesamtleukozyten:

In der unbehandelten Gruppe I fanden wir über die ganze Versuchsdauer eine mittlere Gesamtleukozytenzahl von 11 4oo. Die Schwankungsbreite lag zwischen 7 6oo und 15 2oo. Diese Zahlen stimmen mit den in der Literatur angegebenen Werten überein (29, 58, 86).

Bei den beiden Infektionsgruppen III und IV begann etwa am 3. Tag nach der Infektion eine Leukopenie, die im Laufe des Versuches immer deutlicher zu Tage trat. Die niedrigsten Werte fanden wir am 7. Tag mit 1 5oo bzw. 1 6oo Leukozyten. Über die gesamte Versuchsdauer betrug der Mittelwert der Gruppe III 6 8oo,

der Gruppe IV 5 6oo Leukozyten.

Die statistische Auswertung ergab folgendes:

Zwischen Gruppe	I	und III	p= o,o25
Zwischen Gruppe	I	und IV	p= o,oo25
Zwischen Gruppe	II	und III	p= o,o25
Zwischen Gruppe	II	und IV	p= o,oo5

b) Differentialblutbild:

Am auffallendsten war für uns am Differentialblutbild das Verhalten der neutrophilen Granulozyten und der Lymphozyten. Während der Quotient Neutrophile/Lymphozyten bei der nicht infizierten Gruppe I sich zwischen o,o5 und o,14 bewegte, stieg er bei den beiden infizierten Gruppen auf Werte von 1,3 bzw. o,9 an. Die Signifikanzgrenzen liegen bei o,oo25.

Auch zwischen den Gruppen I und II waren Unterschiede sichtbar, die sich statistisch jedoch nicht nachweisen ließen. Dagegen ist der Unterschied zwischen der infizierten Gruppe III und der zusätzlich mit Vitamin C behandelten Gruppe IV mit p= o,ooo5 signifikant.

Tabelle 5

Blutbild

	Gesamt-Leukozyten				Neutroph. Gran.				Lymphozyten			
Tag	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	14700	15800	11900	5500	8	27	3c	33	91	65	62	61
2	10800	19200	11400	10700	12	19	37	3o	83	77	58	62
3	8300	17400	8900	5100	5	9	36	13	93	85	61	83
4	14200	8400	6500	7100	11	6	55	37	85	9o	42	53
5	9400	7600	2400	5500	12	26	39	45	85	7o	52	5o
6	7600	11700	5000	4000	8	38	24	22	88	55	67	69
7	15200	7000	1500	1600	8	9	2o	23	9o	88	72	67

Neutro./Lympho.				Basoph.Gran.				Eosinoph.Gran.				Monocyten			
I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
,088	o,415	o,485	o,541	-	4	6	6	-	2	-	-	1	2	2	-
,145	o,243	o,638	o,484	1	2	2	5	-	-	-	-	4	2	3	3
,054	o,095	o,59o	o,153	-	1	2	3	-	2	1	-	1	2	-	1
,129	o,o15	1,3o9	o,716	-	1	1	3	-	-	-	6	4	3	2	2
,141	o,471	o,752	o,9oo	1	3	1	4	-	-	1	1	3	1	7	-
,091	o,69o	o,358	o,319	-	2	3	4	3	1	1	-	1	4	5	5
,089	o,1o2	o,278	o,343	1	-	-	5	-	1	-	2	1	2	8	3

Ausscheidung von 17-Ketosteroiden im Urin

Tabelle 6

Ausscheidung von 17-KS im Urin.

Messung in mg pro Tier und Tag:

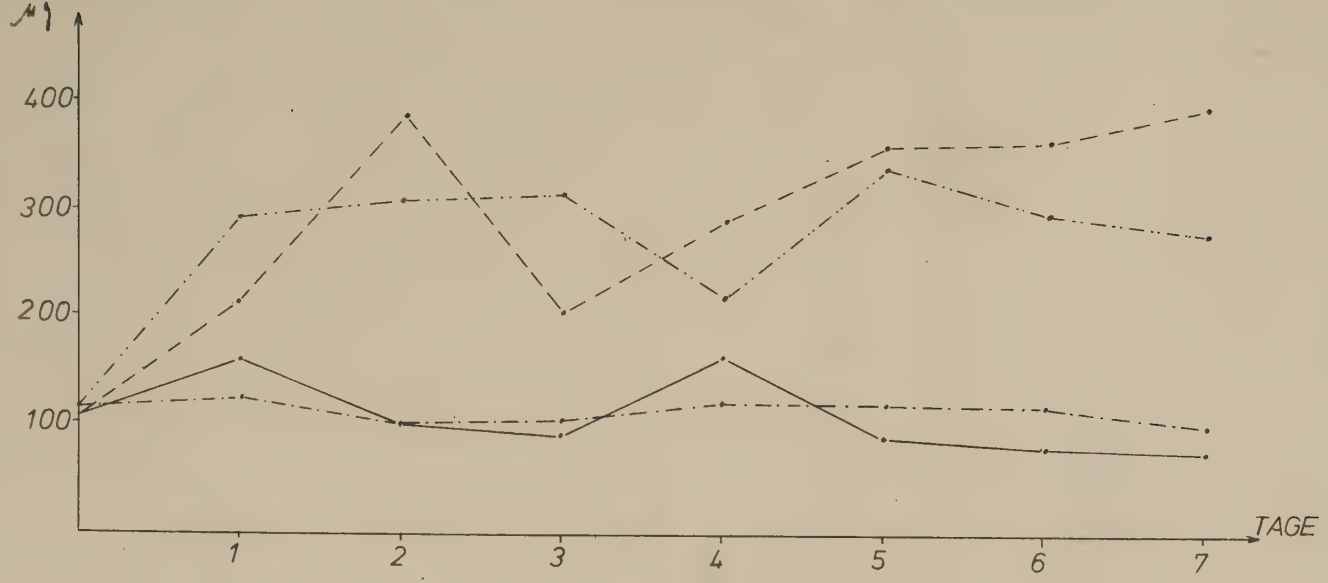
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.Tag
Gr. I. unbehandelt	16o	98	9o	165	89	78	74
Gr. II Vit. C	124	98	1o6	123	12o	116	98
Gr. III Infektion	213	385	2o6	291	362	365	398
Gr. IV Inf.+Vit.C	294	31o	314	221	342	298	28o

Abgesehen von kleineren, wohl physiologischen Schwankungen, zeigten die beiden nicht infizierten Gruppen I und II keine signifikanten Unterschiede in der 17-KS-Ausscheidung im Verlaufe des Hauptversuches.

Die nur infizierte Gruppe III hatte einen steilen Anstieg der 17-KS im Urin bis zum 2. Tage. Nach kurzem Abfall setzte sich die ansteigende Tendenz in gemäßigter Form bis zum 7. Tage fort.

Die mit Vitamin C behandelte infizierte Gruppe IV erreichte bereits 24 Stunden nach gesetzter Infektion den Höhepunkt in der 17-KS-Ausscheidung. Der weitere Verlauf entspricht einem Plateau mit mäßigem Abfall ab dem 5. Tage. Die statistische Auswertung ergab, daß die mittlere 17-KS-Ausscheidung der beiden infizierten Gruppen signifikant gegenüber den Kontrollgruppen erhöht war ($p = 0{,}0005$).

17-KETOSTEROIDE im URIN
(TAGESAUSSCHEIDUNG pro TIER)



GRUPPE I ——— UNBEHANDELT

GRUPPE II — · — · — VITAMIN C

GRUPPE III — — — — INFEKTION

GRUPPE IV — · — · — INFEKTION + VITAMIN C

Berechnung:

Standard: 1 ml eingedampfter Lösung von 1o mg Androsteron in 1oo ml absolutem Alkohol entspricht 1oo g Androsteron. In dem Testwert sind 1oo µg Androsteron sowie folgende Reagenzien enthalten:

1. 2 ml 1% m-Dinitrobenzol in absol. Alkohol
2. 1 ml 3 n wässriger KOH

ZIMMERMANN 1955)

Die Messung erfolgt im Eppendorf-Photometer mit einem Filter von Hg 546 m bei einer Küvettenschichtdicke von 1o mm gegen reinen Äther.

$$17\text{-KS in/mg Tag und Tier} = \frac{(P - L)}{(T - L)} \times 1o \times Ux\ 1ooo$$

P = Probenwertextinktion

T = Testwertextinktion

L = Leerwertextinktion

U = Urinausscheidung in Liter/die

Ausgangsmaterial: 1o ml Urin

Ausscheidung von 17-ketogenen Steroiden im Urin.

Tabelle 7

Ausscheidung von 17-ketogenen Steroiden im Urin.

Messung in µg pro Tier und Tag:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. Tag
Gr. I unbehandelt	1o8	184	131	1o3	135	156	134
Gr. II Vit. C	2oo	225	144	187	1o6	166	176
Gr. III Infektion	45o	839	434	355	398	45o	42o
Gr. IV Inf.+Vit.C	2o8	487	569	431	492	57o	543

Bei den infizierten Tieren der Gruppe III beobachteten wir einen sehr starken Anstieg der ketogenen Steroide im Urin. Sie erreichten am 2. Tage ihren absoluten Höhepunkt und fielen danach wieder ab, ohne jedoch zum Ausgangsniveau zurückzukehren. Die Werte der Gruppe IV (Infekt.+Vit.C) stiegen erheblich langsamer bis zum 3. Tage an, hielten sich aber bis zum Ende des Versuches auf dieser Höhe.

Zwischen den Gruppen I und II einerseits sowie den Gruppen III und IV andererseits bestand eine statistisch gesicherte Signifikanz von p= o,ooo5.

Berechnung:

Standard: siehe S. 2o

$$17\text{-KGS in mg/Tier und Tag} = \frac{2\,(P-L)\text{-Ext. 17 KS}}{(T-L)} \times 1o \times U \times 1ooo$$

P = Probenwertextinktion T - L = 395

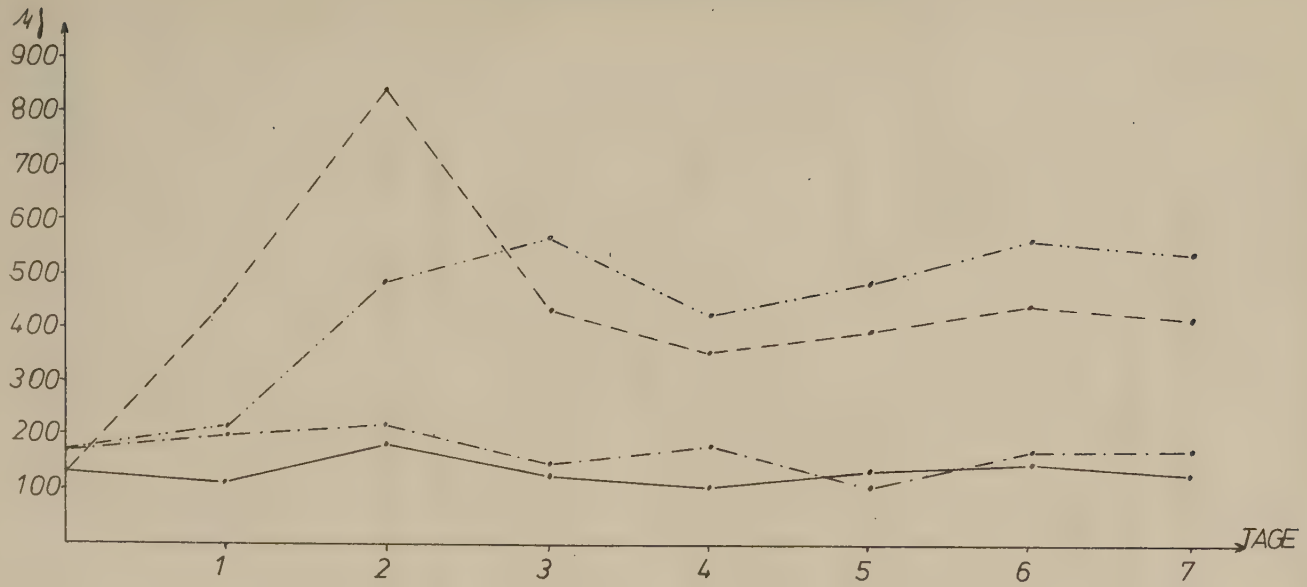
T = Testwertextinktion

L = Leerwertextinktion

U = Urintagesausscheidung pro Tier in Liter

Ausgangsmaterial: 5 ml Urin

17-KETOGENE STEROIDE im URIN.
(TAGESAUSSCHEIDUNG pro TIER)



GRUPPE I ——— UNBEHANDELT

GRUPPE II — · — · — VITAMIN C

GRUPPE III — — — INFEKTION

GRUPPE IV — · · — · · — INFEKTION + VITAMIN C

Quotient zwischen katabolen und anabolen Hormonen im Urin.

Tabelle 8

Quotient 17-KGS / 17-KS im Urin (in Relativwerten):

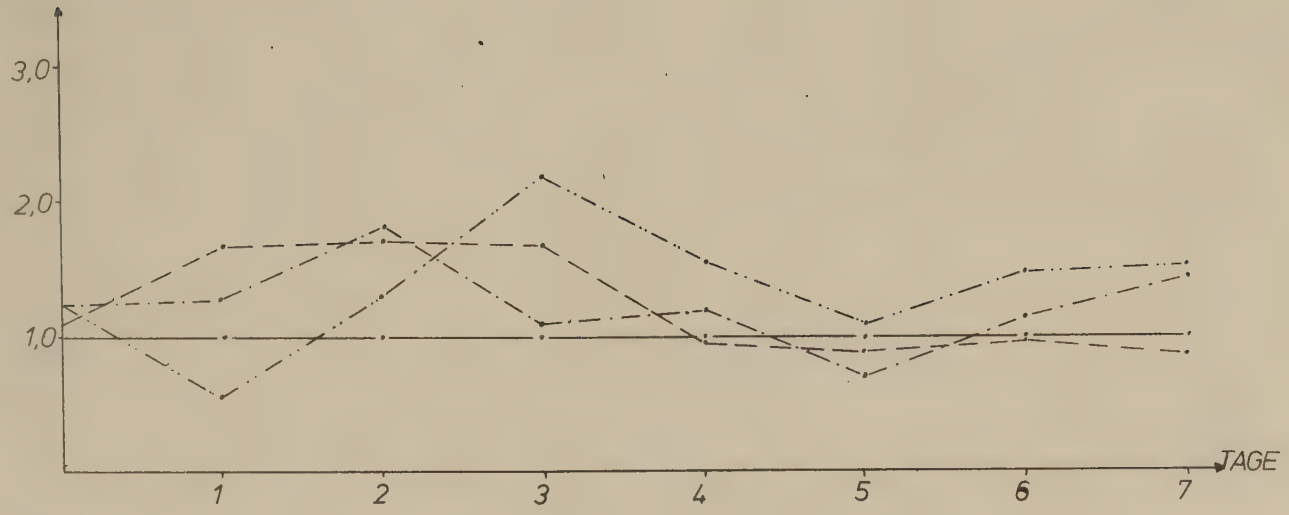
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. Tag
Gr. II Vit.C	1,28	1,82	1,o8	1,21	o,7o	1,14	1,43
Gr. III Infektion	1,68	1,73	1,67	o,97	o,87	o,98	o,84
Gr. IV Inf.+Vit.C	o,56	1,25	2,2o	1,55	1,14	1,52	1,54

Als Normalwerte wurden die gemessenen 17-KGS- und 17-KS-Ausscheidungsmengen der Kontrollgruppe I angenommen.
Die Quotienten der Gruppen II, III und IV sind als Relativwerte bezogen auf den Normwert der Gruppe I anzusehen.

$$\frac{\text{Mittlere 17-KGS-Ausscheidung der Gr. I (136 = 1oo\%)}}{\text{Mittlere 17-KS- Ausscheidung der Gr. I (1o8 = 1oo\%)}} = 1$$

Die Zufuhr von Vitamin C bewirkte bei den Versuchsgruppen II und IV einen mässigen Anstieg des Quotienten 17-KGS/17-KS.

QUOTIENT 17-KETOGENE STEROIDE/ 17-KS im URIN.



GRUPPE I ——— UNBEHANDELT

GRUPPE II —·—·— VITAMIN C

GRUPPE III – – – INFEKTION

GRUPPE IV —··—··— INFEKTION + VITAMIN C

17-Ketosteroide im Plasma.

Tabelle 9

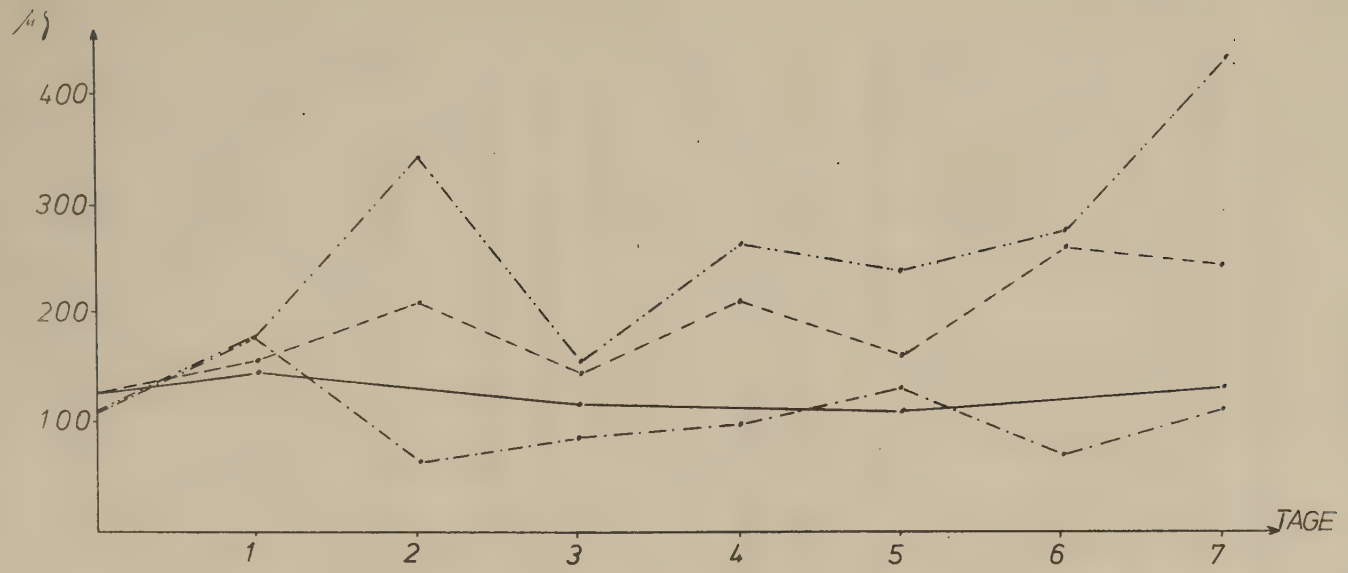
17-Ketosteroide im Plasma in µg:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. Tag
Gr. I unbehandelt	144	-	115	-	1o7	-	129
Gr. II Vit. C	178	62	8o	98	129	71	115
Gr. III Infektion	151	21o	144	214	16o	262	249
Gr. IV Inf.+Vit.C	178	347	151	268	235	275	435

Wenn man die Werte der nicht infizierten mit denen der infizierten Tiere vergleicht, stellt man eine signifikante Erhöhung der 17-KS im Plasma nach Infektion fest. ($p=o,o1$)
Der Verlauf der 17-KS-Kurven bei den Gruppen III und IV erscheint in etwa gleichsinnig, wobei jedoch bemerkt werden muß, daß die Werte der Gruppe IV etwas höher liegen.

Berechnung: siehe 17-KS im Urin.

17-KETOSTEROIDE im PLASMA.



GRUPPE I ———— UNBEHANDELT

GRUPPE II — · — · — VITAMIN C

GRUPPE III — — — INFEKTION

GRUPPE IV — · — · — INFEKTION + VITAMIN C

Freie und gebundene Corticoide im Plasma.

Tabelle 1o

Freie und gebundene Corticoide im Plasma (Summe in µg):

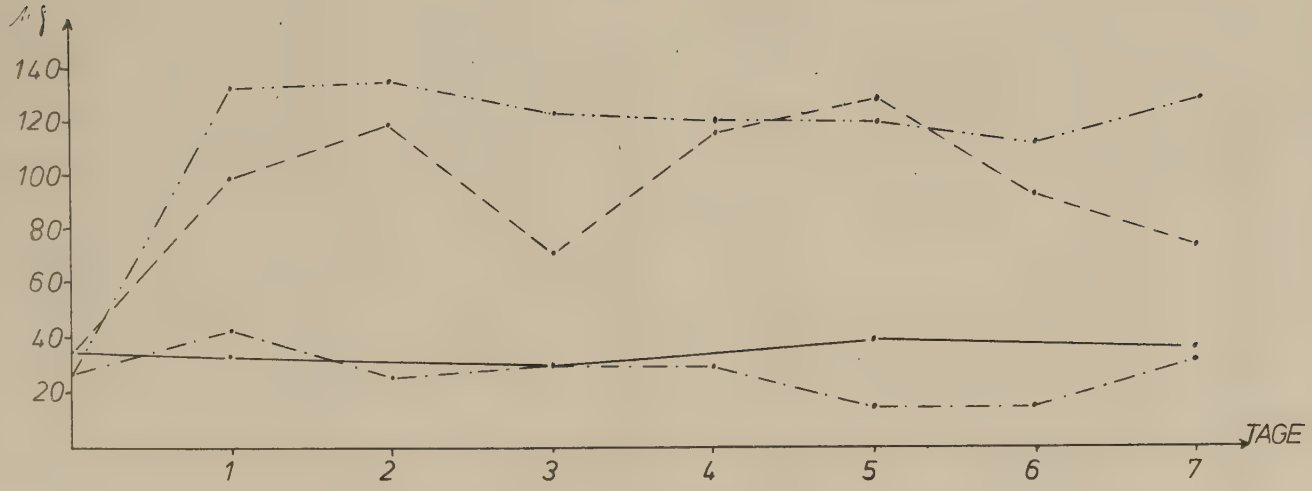
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. Tag
Gr. I unbehandelt	33	-	3o	-	4o	-	37
Gr. II Vit. C	43	25	3o	3o	13	15	33
Gr. III Infektion	1oo	12o	7o	117	13o	93	74
Gr. IV Inf. + Vit.C	133	136	123	12o	12o	113	13o

Ein ähnliches Bild wie die 17-Ketosteroide ergeben die freien und gebundenen Corticoide im Plasma.

Gleich am ersten Tag nach der Infektion stiegen die Werte der Gruppen III und IV steil an ($p = o,oooo5$).
Während sich die mit Vitamin C behandelte infizierte Gruppe bis zum letzten Versuchstag auf dem stark erhöhten Niveau hielt, zeigte die nur infizierte Gruppe III gegen Ende des Versuches eine abfallende Tendenz.

Zwischen den Gruppen I und II waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

FREIE u. GEBUNDENE CORTICOIDE im PLASMA.



GRUPPE I ——————UNBEHANDELT

GRUPPE II —·—·—VITAMIN C

GRUPPE III – – – –INFEKTION

GRUPPE IV—·—·—·—INFEKTION+ VITAMIN C

Quotient zwischen katabolen und anabolen Hormonen im Plasma.

Tabelle 11

Quotient PSC / 17-KS im Plasma (in Relativwerten):

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. Tag
Gr. II Vit. C	o,86	1,43	1,33	1,o8	o,65	o,41	1,oo
Gr. III Infektion	2,46	2,o2	1,73	2,oo	2,88	1,25	1,o5
Gr. IV Inf.+Vit.C	3,o9	1,39	2,9o	1,59	1,8o	1,45	1,o6

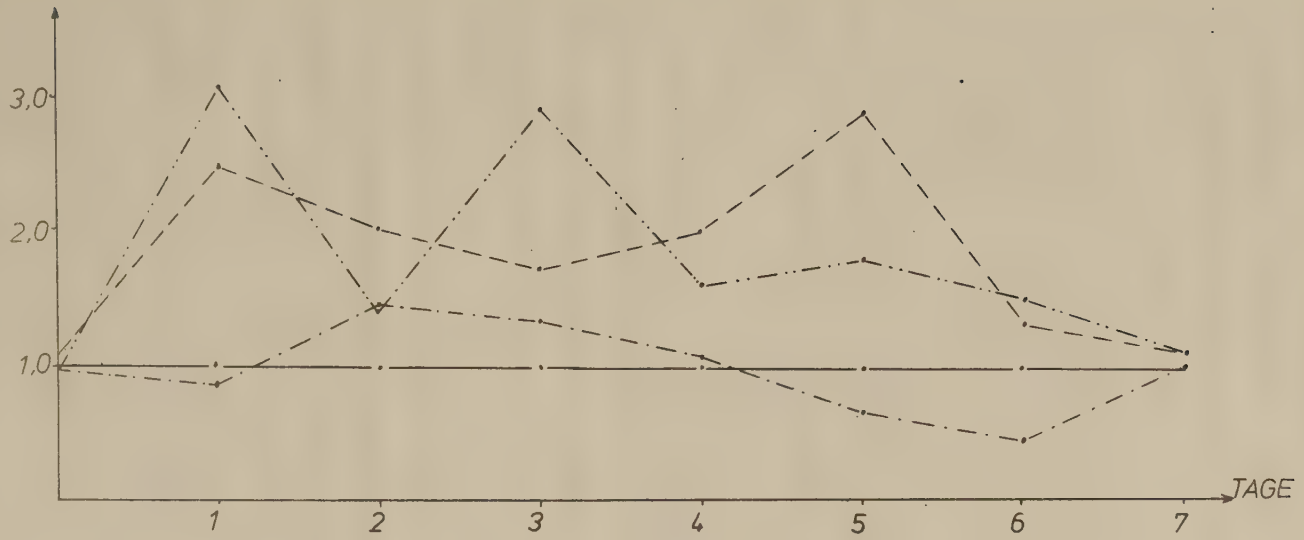
Die Quotienten wurden auf gleiche Weise berechnet, wie die im Urin. Es handelt sich also ebenfalls um Relativwerte bezogen auf die Gruppe I.

$$\frac{\text{Mittlere Corticoidkonzentration der Gr. I (35 = 1oo\%)}}{\text{Mittlere 17 -KS - Konzentration der Gr. I (124= 1oo\%)}} = 1$$

Die Infektion bewirkte bei den beiden infizierten Gruppen III und IV eine signifikante Erhöhung des Quotienten von katabolen und anabolen Hormonen. (Gruppe III : $p = o,o25$, Gruppe IV : $p = o,o5$)

Zwischen den Gruppen I und II einerseits, sowie den Gruppen III und IV andererseits bestanden keine signifikanten Unterschiede.

QUOTIENT FREIE u.GEBUND. CORTICOIDE / 17-KETOSTEROIDE im PLASMA



GRUPPE I ——— UNBEHANDELT

GRUPPE II —·—·— VITAMIN C

GRUPPE III — — — INFEKTION

GRUPPE IV —··—··— INFEKTION + VITAMIN C

Diskussion.

Bei Salmonellosen kommt es zur Bakteriämie, Apathie, Abmagerung und Durchfall (35). Diese Beobachtungen machten wir im Versuchsverlauf auch bei unseren Tieren.

ZIMMERMANN et. al. (1962) und LÜBKE (1966) begrenzten die Dauer ihres Versuches auf 6,5 bzw. 6 Tage, um die Phase der Antikörperbildung, also die spezifische Resistenz gegen Infektionen, auszuschließen (73, 39).

Nach dieser Zeit sollte noch die Hälfte der Tiere leben (ST_{50}=survival time 50%). Diese Bedingung konnten wir in unserem Versuch mit einer ST_{50} von 7 Tagen in etwa reproduzieren.

Wir wollten keine Mangelsymptome untersuchen. Aus diesem Grunde applizierten wir Vitamin C im Überschuß.

Die intraperitoneale Zufuhr von 58 mg l-Ascorbinsäure pro Tier und Tag (31, 74, 15) wurde von den Tieren gut vertragen. Schädigungen aufgrund der Acidität von l-Ascorbinsäure wurden bei den täglich durchgeführten Obduktionen nicht beobachtet.

Der Einfluß von Vitamin C auf die Nebennierenrinde:

Eine befriedigende Begründung der Rolle der l-Ascorbinsäure in der Nebennierenrinde ist bis heute noch nicht erbracht worden.

Das Abfallen des l-Ascorbinsäuregehaltes in der NNR, welches

dem Abfallen der Cholesterol-Konzentration vorausgeht, ist seit langem bekannt (55, 19, 66, 22, 51, 57, 64). Der Anstieg der Ascorbinsäure-Konzentration in der Erholungsphase geht schneller vonstatten als der Cholesterol-Anstieg (56). Das läßt vermuten, daß Vitamin C entweder eng mit dem Mechanismus der Biosynthese der Kortikosteroide oder mit deren Ausschüttung aus der Nebennierenrinde verbunden ist.
Die Theorien über die Wirkung der l-Ascorbinsäure in der Nebennierenrinde sind vielschichtig:
UDENFRIEND (1954) sagt, die Hydroxylation einer großen Anzahl organischer Verbindungen durch Leber-Mikrosomen hat viele gemeinsame Merkmale mit der Steroid-hydroxylation in der Nebennierenrinde und wurde mit nicht enzymatischen Modellsystemen, die l-Ascorbinsäure Fe^{++} und Äthyldiaminotetra-Essigsäure enthielten, studiert (69, 8). Es mag bezeichnend sein, daß die Hydroxylation dieser Substanzen beim Meerschweinchen mit Vitamin C-Mangel vermindert ist (3). Die Ausscheidung von Hydrokortison im Urin dieser Tiere ist jedoch höher als bei Normaltieren (47).

Es gibt keinen Beweis, daß die Nebennierenrinden von Mangeltieren vollkommen Vitamin C-frei waren, und man kann aus diesen Experimenten nicht schließen, daß die l-Ascorbinsäure unnötig für die Kortikosteroid-Biosynthese ist (19).

KERSTEN et. al. (1955 und 1958) haben gezeigt, daß die l-Ascorbinsäure die Überführung der Elektronen vom reduzierten DPNH zu dem Cytochrom-System in den Nebennierenrindenzellen katalysiert und haben gleichzeitig vermutet, daß die l-Ascorbinsäure, enthalten

in reduziertem Zustand bei DPNH, in ähnlicher Weise wie das TPNH bei der Steroid-Hydroxylation fungieren könnte (32,33).

In vitro war es nicht möglich, diese Rolle der Ascorbinsäure zu bestätigen: Während in löslicher Zubereitung die Mitochondrien in Gegenwart von TPNH die Steroid-11-ß-hydroxylation katalysieren, konnte dieser Effekt mit Ascorbinsäure nicht erzielt werden (19).

JENKINS (1962)ist der Ansicht, daß die Produktion von 17-Hydroxysteroiden unter dem Einfluß von Vitamin C weder gefördert noch gehemmt wird. Die l-Ascorbinsäure soll jedoch das ACTH hemmen. Dagegen sei der Effekt der Ascorbinsäure in Gegenwart von TPN bei der Umwandlung von 11-desoxycortisol zu Cortisol signifikant. Die l-Ascorbinsäure alleine habe keine Wirkung: TPN bewirke auch ohne die Anwesenheit von Vitamin C eine starke Umwandlung (28).

GOLDEN et. al. (1961) meinen, daß die Entleerung von Ascorbinsäure unter dem Einfluß von ACTH einfach einen Austauch mit Glukose und ihren Metaboliten darstelle, und aus diesem Grunde nur indirekt an der Steroidgenese beteiligt sei (18).

HAYANO (1956) schreibt: Die Tatsache, daß 11-Hydroxyprogesteron, Kortikosteron und Cortisol gleichermaßen in Anwesenheit von Vitamin C vermindert sind, mag an der verminderten Produktion von Progesteron liegen (2), das dann in Umkehr der Effekte im folgenden direkt als Hemmer der Hydroxylationsenzyme wirken (4) oder die Hydroxylationsenzyme von der Oberfläche des Mitochondrienkomplexes

loslösen könnte. So wäre es möglich, daß die l-Ascorbinsäure als "restrainig factor" bei den ersten Syntheseschritten der Steroidbiogenese wirkt (22).

RECK et. al. (196o) glauben, daß die Ascorbinsäureentleerung der Nebennierenrinde ausschließlich etwas mit der Freisetzung der Kortikosteroide zu tun hat und keinen Einfluß auf die Kortikosteroidsynthese, da eine maximale Ascorbinsäureentleerung nicht mit dem Gipfel der Kortikosteroidkonzentration in der Drüse zusammenfällt (51, 65, 21).

SALOMON (1957 und 1958) versuchte die Beziehungen zwischen zirkulierender Ascorbinsäure und dem Ausschüttungsprozeß zu erklären. Mit Hilfe von C^{14} markierter l-Ascorbinsäure demonstrierte er, daß zwei Formen von Ascorbinsäure in der Nebennierenrinde vorhanden sind: Eine, die sich schnell mit dem anhängenden Material austauscht, sobald das letztere im Plasma vorhanden ist und eine andere, die viel langsamer ins Gleichgewicht kommt. Aufgrund dieser Studie hat SALOMON die folgende Reaktionsfolge vermutet:

Plasma-Asc. s. ----------→	NNR-Asc.s.(frei) Gl.I
NNR-Asc.s.(frei) ----------→	NNR-Asc.s.(gebunden)Gl.II
NNR-Asc.s.(gebunden) ----------→	Reaktionsprodukt Gl.III

Die Reaktionsprodukte der Gleichung III sind höchstwahrscheinlich Dehydro-ascorbinsäure und Diketogulonsäure (52, 64).

Es ist nicht bekannt, wie die Gleichung III die Sekretion von Hydrocortison beeinflußt. Da ja der Mensch nicht in der Lage ist,

Ascorbinsäure zu bilden, muß die hauptsächliche Vitaminquelle das Plasma sein. Der Plasma-Ascorbinsäurespiegel ist folglich ein wichtiger Faktor der Nebennierenrinden-Ascorbinsäure-entleerungsreaktion, der der Ausschüttung von ACTH oder einem Stress-stimulus folgt.

Der Plasma-Vitamin-C-Spiegel während einer Stressituation ist hoch mit dem Hydrocortisonspiegel korreliert (2o, 53, 54). Der Abfall der Ascorbinsäure in der Nebennierenrinde könnte ein auslösender Faktor für die Ausschüttung von ACTH sein und die metabolische Aktivität und andere Funktionen der NNR-Hormone fördern (6,7).

PINCUS und Mitarbeiter versuchten als erste, die NNR-Sekretion durch Erhöhung des Vitamin C-Plasmaspiegels zu beeinflussen. Nach Gabe von 1oo mg Vitamin C pro Tag über 13 - 15 Tage waren sie nicht in der Lage, eine Erhöhung der 17-Ketosteroide im Urin nachzuweisen (49, 5o).

Diese Angaben stimmen auch mit unseren Versuchsergebnissen überein.

Derselben Ansicht ist auch ZIMMERMANN (74), während KELLER und HAIZMANN eine erhöhte 17-Ketosteroidausscheidung bei hoher Vitamin C-Gabe fanden (31).

Auf die Zufuhr von 4ooomg Ascorbinsäure/die über 4 Tage an normalen Menschen fand KAYAHAN (1952), daß die Ausscheidung von 11-Oxysteroiden verdoppelt war, während sich die 17-Ketosteroide im Urin um ein Drittel erniedrigten (3o).

Auch nach SNEER und Mitarbeitern (1968) hat die Anreicherung von Vitamin C in der Nebennierenrinde nicht in entsprechender Weise die Produktion von Kortikosteroiden und deren Ausscheidung im Urin erhöht (66).

Diese Resultate erscheinen nicht erstaunlich, wenn man die Ergebnisse von KITALKI (1967) in Betracht zieht: Die Vermehrung der l-Ascorbinsäure in der Nebennierenrinde soll die Aktivität der 11-ß-Hydrosylase hemmen, die an der Steroidgenese beteiligt ist. Ein Stress oder die Ausschüttung von ACTH bewirkt zunächst eine Verminderung der Vitamin C-Beladung der NNR und erst darauf die Produktion ihres speziellen Hormones (34).

Infektion und Blutbild.

Bei Typhuserkrankungen kommt es zu einem stark reaktiven Verhalten des Blutbildes, besonders zu einem Abfall der Gesamtleukozyten (23).

Bakterienendotoxine, spezifische Lipopolysaccharide, die ein Bestandteil der Zellwand gramnegativer Stäbchen sind, haben eine besondere Affinität zu Zellgrenzflächen und führen zur Auflösung von Körperzellen (41, 42).

Die zelluläre Zusammensetzung des Blutes wird durch vier Mechanismen bestimmt:

1. Zellbildung
2. Zellabbau
3. Verschiebung von Zellen aus nicht zirkulierenden Abschnitten in den Blutstrom und umgekehrt.
4. Änderung des Plasmavolumens.

Man nimmt an, daß all diese Mechanismen hormonalen Einflüssen unterliegen (1o).

Der Nebennierenrinde kommt hier eine besondere Bedeutung zu, Die Kortikosteroide beeinflussen sowohl das rote wie auch das weiße Blutbild. Im Tierexperiment wurde eine Steigerung der Erythropoese beobachtet, die jedoch auf einer Erhöhung des Sauerstoffbedarfes in dem Gewebe beruhen dürfte. Auf das weiße Blutbild sind die Einflüsse der Nebennierenrinde mannigfaltig (74). Dabei handelt es sich fastausschließlich um eine Wirkung der Glucocorticoide: Beim Überschuß an Glucocorticoiden kommt es:

1. Zur Lymphopenie, erkennbar an einer Kernpyknose und am Zellzerfall (1o, 76, 37, 4o)
2. Zur Neutrozytose, wahrscheinlich durch direkte Wirkung auf das Knochenmark durch Ausschüttung von Zellen aus dem Markreservoir (1o, 11, 75, 4o).
3. Zur Eosinopenie (1o, 75).

In Übereinstimmung mit den oben zitierten Autoren kam es während unserer Versuche nach Infektion mit Salmonella typhimurium bei erhöhter Plasmacorticoid-Konzentration zu einer Abnahme der Gesamtleukozyten, einer Zunahme der neutrophilen Granulozyten und einem Abfall der Lymphozyten.

Infektion und Resistenz.

Die Nebennierenrinde spielt bei Belastungen des Körpers, sei sie durch Infektionskrankheiten oder durch irgendeinen Stress hervorgerufen, eine besondere Rolle.

HOFF bezeichnete den unspezifischen Abwehrvorgang als eine "Vegetative Gesamtumschaltung", die in zwei Phasen abläuft:

I. Erhöhung des Sympatikotonus

II. Erhöhung des Parasympatikotonus

Die Steuerung erfolgt zentralnervös (24-27).

SEYLE nannte diese immer in gleicher Weise ablaufende Reaktion "Adaptationssyndrom" (59-61).

Über den Hypophysenvorderlappen kommt es beim Stress zu einer vermehrten Ausschüttung von ACTH. Dieses stimuliert die Nebennierenrinde, besonders die Zona fasciculata mit ihren Glucocorticoiden (62, 13).

Bei dieser verstärkten ACTH-Ausschüttung könnte es durch Unterdrückung des mesenchymalen Systemes zu einer Verminderung der Resistenz gegenüber Infektionen kommen, ähnlich einer exogenen Cortisozufuhr (63, 43, 68, 38, 44).

Durch Analyse der 17-Ketosteroide und Corticoide im Plasma bzw. im Harn lassen sich diese Vorgänge nachweisen. Bei verminderter 17-Ketosteroidausscheidung beobachteten verschiedene Autoren auch eine verminderte Infektionsresistenz (76, 77, 1, 45, 16), was für die Prognose einer Infektionskrankheit entscheidend wichtig ist (78-8o).

Eine noch bessere Aussage läßt sich durch die Berechnung des Quotienten zwischen katabolen und anabolen Hormonen machen. Bei chronisch auszehrenden Krankheiten wird der Quotient durch das relative Überwiegen der katabolen Hormone größer als 1 (73, 9, 81-83).

Bei unseren eigenen Untersuchungen fanden wir eine hochsignifikant erhöhte Ausscheidung von 17-Ketosteroiden und 17-ketogenen Steroiden bei den beiden infizierten Gruppen III und IV. Einen Abfall zur Norm konnten wir bei der auf 7 Tage beschränkten Versuchsdauer nicht feststellen.

Der Quotient zwischen katabolen und anabolen Hormonen war etwas indifferent. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede, die eine eindeutige Aussage zuließen.

Im Plasma stiegen die freien und gebundenen Corticoide bei den beiden Infektionsgruppen relativ stärker an, als die 17-Ketosteroide. Das äußerte sich auch im Verhalten des Quotienten zwischen katabolen und anabolen Hormonen, der bei diesen Gruppen Werte bis zu 3 erbrachte. Am Ende des Versuches hatte er sich jedoch durch ein weiteres Ansteigen der 17-Ketosteroide, sowie einen mäßigen Abfall der Corticoide wieder der Norm genähert.

Aus dem weithin gleichsinnigen Verhalten der Gruppen I und II einerseits und den beiden infizierten Gruppen III und IV andererseits in Infektionsresistenz, Blutbild und Steroidhaushalt können wir schließen, daß nach unserer Ansicht kein bedeutender Unterschied zwischen normal ernährten Tieren und Tieren, die zusätzlich Vitamin C im Überfluß erhielten, besteht.

Zusammenfassung:

An 24o erbreinen Meerschweinchen vom Stamm "pirbright white" untersuchten wir den Einfluß von Vitamin C auf die unspezifische Infektionsresistenz, den Urin- und Plasmagehalt an Kortikoiden und 17-Ketosteroiden sowie das Blutbild. Die Infektion erfolgte nucheal mit Salmonella typhimurium S7.

Die mittlere Überlebenszeit (ST_{50}) war bei den mit Vitamin C behandelten Tieren von 7 auf 9,5 Tage verlängert. Bei der ST_{20} war kein Unterschied mehr feststellbar.

Die Kurven der Kortikoide und 17-Ketosteroide in Urin und Plasma verliefen für behandelte und unbehandelte Tiere gleichsinnig. Die Theorien über die Wirkungsweise der l-Ascorbinsäure auf die Nebennierenrinde wurden ausführlich dargestellt.

Nach der Infektion kam es zu einem starken Anstieg der Hormonproduktion, wobei die katabolen Hormone gegenüber den anabolen überwogen. Die Frage des Quotienten zwischen katabolen und anabolen Hormonen im Plasma, hinsichtlich einer Prognose für den Ausgang einer Infektionskrankheit, wurde diskutiert.

Im Verlaufe der Infektion zeigte das weiße Blutbild ein stark reaktives Verhalten, mit Abnahme der Gesamtleukozyten, Lymphopenie und Anstieg des Quotienten neutrophile Granulozyten/Lymphozyten. Signifikante Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren waren nicht vorhanden.

Auf die Beziehungen der Hormonproduktion der Nebennierenrinde zum mesenchymalen System wurde hingewiesen.

Schrifttum

1. ABDERHALDEN R. und G. ABDERHALDEN
Nebenniere und Tuberkulose
Bull. Schweiz.Akad.Med.Wiss. 6, (1950), 48

2. AMELUNG D., H.J. HÜBNER und L. ROCKA
Enzymatische Umwandlung von Steroiden
Z.Physiol.Chem. 294, (1953), 36

3. AXELROD J., S. UDENFRIEND und B.B. BRODIE
Ascorbic acid in aromatic hydroxylation III. Effect of ascorbic acid on hydroxylation of acetanilid, anilin and antipyrine in vivo.
J. Pharmakol. 111, (1954), 176

4. AXELROD L.R. und G. ARROGAVE
Biosynthesis and characterization of 11-ß-hydroxy-testosteron.
J.Am.Chem.Soc. 75, (1953), 5729

5. Bestimmung von Vitamin C mit 2,6-Dichlorphenol-Indophenol-Natrium.
Med.Chem. Untersuchungsmethoden
E.Merck AG Darmstadt (1962), 225

6. BOOKER W.M.
Relationship between glutathione and ascorbic acid in adrenocortical function.
Am.J.Physiol. 181, (1952), 2

7. BOOKER W.M.
Relation of ascorbic acid to adrenocortical function during cold stress.
Fed.Proc. 19 (suppl.5), (1960), 94

8. BRODIE B.B., J.AXELROD, P.A.SHORE und S.UDENFRIEND
Ascorbic acid in aromatic hydroxylation II.
Products formed by reaction of substrates with ascorbic acid, ferrous ion and oxygen.
J.Biol.Chem. 208, (1954), 741

9. BRÜHL L., E.KAISER und G.V.GERTEL
Plasmasteroide bei esperimenteller Meerschweinchen-tuberkulose.
Klin.Wschr. 39, (1962), 1119

1o. BUCHER U. und M.P.KÖNIG
Hormonale Einflüsse auf das Blutbild.
Schweiz.Med.Wschr. 99, (1969), 748

11. CREAM J.J.
Prednisolon-induced granulocytosis.
Brit.J.Haemat. 15, (1968), 259

12. Documenta Geigy-Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage (1968), 32 und 61

13. DORFMANN R.J.
Special aspects of adrenocortical steroid metabolism.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 61, (1955), 291

14. DUMAS J.
Les animaux de laboratoire.
Edition medicales flammatoire, Paris (1953)

15. EROEDI A.
On the stress-conterregulation of ascorbic acid in pyogenic infections.
Med. Klinik 54, (1959) 1693

16. FORBES A.P., E.C.DONALDSON, E.C.REIFENSTEIN und F.ALBRIGHT
The effect of trauma and disease on the urinary 17-KS excretion in man.
J.Clin.Endocrin. 7, (1947), 264

17. FORTIER C. und D.N.WARD
Limitations of the in vitro pituary incubation system as an assay for corticotropin-releasing activity.
Can.J.Biochem.and Physiol. 36, (1958), 111

18. GOLDEN M., E.SCULLY, J.EICHHORN und O.HECHTER
Permeability of rat adrenals in vitro to D-xylose in presence and absence of ACTH.
Proc.Soc.Exp.Biol and Med. 1o6, (1961), 354

19. GRANT K.J.
The biosynthesis and secretion of adrenocortical steroids.
Biochemical society symposium 18, (1959)

2o. GROSZ H.J.
The relation of serum ascorbic acid level to adrenocortical secretion during experimentally induced emotionell stress in human subjects.
J.Psychosom.Res. 5, (1961), 253

21. GUILLEMIN R., W.E.DEAR, B.NICHOLS und H.S.LIPSCOMB
ACTH-releasing activity in vitro of a CRF preparation and lysine vasopressin.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1o1, (1959), 1o7

22. HYANO M., N.SABA, R.I.DORFMAN und O.HECHTER
Biogenesis of adrenal steroid hormones.
Recent Progr. in Horm.Res. 12, (1956), 79

23. HÖNIG F.O.
Klinische Infektionslehre -3-
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1962)

24. HOFF F.
Klinische Probleme der vegetativen Regulation und der Neuralpathologie.
Dtsch.Med.Wschr. (1952), 65, 112, 146

25. HOFF F.
Unspezifische Therapie und natürliche Abwehrvorgänge.
Springer-Verlag, Berlin (193o)

26. HOFF F.
Die Bedeutung der regulationspathologischen Sicht für die Therapie.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 59, (1953), 122

27. HOFF F.
Bemerkungen zum Problem der unspezifischen Abwehrvorgänge.
Ver.Dtsch.Ges.Inn.Med. 62, (1956), 2o9

28. JENKINS J.S.
The effect of ascorbic acid on adrenal steroid synthesis in vitro.
Endocrinology 7o, (1962), 267

29. JUNG S.
Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere.
Gustav-Fischer-Verlag, Jena, (1961)

3o. KAYAHAN S.
The effect of high doses of ascorbic acid on the functions of the adrenal glands.
J.Endocrinol. 8, (1952), 211

31. KELLER N. und R.HAIZMANN
17-Ketosteroide und Vitamin C-Ausscheidung bei Lungentuberkulose.
Beitr.z.Klin.d.Tuberkulose 112, (1954), 223

32. KERSTEN W., S. LEONHÄUSER und H.STAUDINGER
Zum Wirkungsmechanismus der Askorbinsäure.
Biochem. Biophys.Acta 29, (1958), 35o

33. KERSTEN W., H.SCHMITT und H.STAUDINGER
Stoffwechsel der Nebennierenrinde und Biosynthese der Kortikosteroide; Askorbinsäure und Wasserstoff-transport.
Biochem.Z. 326, (1955), 469

34. KITALKI A.E.
Ascorbic acid in steroidogenesis.
Nature (London) 215, (1967), 1385

35. KOCH W. und G.HEIN
Die Haltung und Zucht von Versuchstieren.
Ferdinand-Enke-Verlag, Stuttgart (1955)

36. KORNELL L.
An improved rapid method for free and conjugated 17-Hydroxycorticosteroids in plasma.
J.Lab.Clin.Med. 54, (1959), 659

37. LANGENDORFF H. und E. TONUTTI
Zur Regulation des weißen Blutbildes: Lymphozyten und Nebennierenrindenfunktion.
Ärztl. Forschung 4, (1950), I/197

38. LICHWITZ A.
Stéroides hormoneaux et réactions inflammatoires.
Sem.Hôp. Paris 27, (1951) 3337

39. LÜBKE P.
Versuch zur Errichtung eines Modells zum Studium der natürlichen Resistenz gegen Infektionskrankheiten-Blockadeversuch mit Tusche.
Inaug.-Diss.Homburg/Saar (1966)

40. LÜBKE P., W.RINDT und W.ZIMMERMANN
Einfluß von Tuscheblockade auf Infektionsresistenz, Blutbild und Steroide.
Zbl.f.Bakt.I Orig. 204, (1967), 417

41. LÜDERITZ O., O.WESTPHAL, K.SIEVERS, E.KRÖGER, E.NETER und O.H.BRAUN
Über die Fixation von P^{32}-markiertem Lipopolysaccharid (Endotoxin) aus E.Coli an menschliche Erythrozyten.
Biochem.Z. 330, (1958), 34

42. LÜDERITZ O., O.WESTPHAL, E.EICHENBERGER und E.NETER
Über die Komplexbildung von bakteriellen Lipopolysacchariden mit Proteinen und Lipoiden.
Biochem.Z. 330, (1958), 21

43. MEIER R., F.GROSS, P.DESSAULLES und B.SCHÄR
Vergleiche der zellulären Wirkung verschiedener Steroide in vitro und in vivo.
Bull.Schweiz.Akad.Med.Wiss. 8, (1952), 34

44. MEIER R., F.GROSS und P.DESSAULLES
Über die Bedeutung der Nebennierenrindensteroide für den Ablauf entzündlicher Reaktionen.
Klin.Wschr. 29, (1951), 653

45. MÜNIP YEGIN M.
Versuche über die Infektionsresistenz von Tieren und ihre Beziehungen zur 17-Ketosteroidausscheidung.
Inaug.-Diss-Gießen (1958)

46. NORYMBERSKI K., R.D.STUBBS und H.F.WEST
Assessement of adrenocortical activity by assay of 17-Ketogenic steroids in urine.
Lancet 1, (1953), 1276

47. OERTEL G. und H.HEIN
Ausscheidung von 17-oxy-corticosteron im Harn skorbutischer Meerschweinchen.
Hoppe-Seyl.Z. 3o1, (1955), 191

48. PORTER C.C. und R.H.SILBER
A. quantitive color reaction for cortison and related 17, 21-dihydroxy-2o-ketosteroids.
J.Biol.Chem. 185, (195o), 2o1

49. PINCUS G., H.HOAGLAND, H.FREEMAN, F.ELMADJIAN und L.P.ROMANO F
A study of pituary-adrenocortical function in normal and psychotic men.
Psychosom.Med. 11, (1949), 74

5o. PINCUS G., V.SCHENKER, F.ELMADJIAN und H.HOAGLAND
Responsivity of schizophrenic men to pituary adrenocorticotropin.
Psychosom.Med. 11, (1949), 146

51. RECK D.C. und C.FORTIER
Adrenal ascorbic acid and corticosteroidogenesis following unilateral adrenalectomie in the rat.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1o4, (196o), 61o

52. SALOMON L.L.
Studies on adrenal ascorbic acid I:
The fate of ascorbic acid.
Texas Rep.Biol.Med. 15, (1957), 925

53. SALOMON L.L.
Studies on adrenal ascorbic acid III:
Exchangeability with extracellular ascorbic acid.
Texas Rep.Biol.Med. 16, (1958), 153

54. SALOMON L.L.
Studies on ascorbic acid IV:
Slow phase of exchange with extracellular
ascorbic acid.
Texas Rep. Biol.Med. 16, (1958), 247

55. SAYERS G., M.A.SAYERS, H.L.LEWIS und C.N.H.LONG
Effect of adreno-tropic hormone on ascorbic
acid and cholesterol content of adrenal.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 55, (1944), 238

56. SAYERS G.
The cholesterol and ascorbic acid content of the adrenal,
liver, brain and plasma following hemorrhage.
Endocrinology 37, (1945), 96

57. SCHAPIRO S., E.GELLER und G.Y.BELLY
Corticoid-response to stress in the steroid-inhibited
rat.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1o9, (1962), 935

58. SCHERMER S.
Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere.
Johann-Ambrosius-Barth-Verlag, Leipzig 1954

59. SEYLE H.
Stress and general adaptation syndrom.
Brit. Med.J. (195o), 1383

6o. SEYLE H.
Der heutige Stand der Stress-Konzeption.
Münch.Med.Wschr. (1953), 426

61. SEYLE H.
Die Beteiligung der Hormone bei nicht endokrinen
Krankheitsprozessen.
Regensburger Jahrb.Ärztl.Fortb. 7, (1959), 116

62. SEYLE H.
Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1953)

63. SEYLE H.
Further studies concerning the participation of the adrenal cortex in pathogenesis of arthritis.
Brit. Med. J. 9, (1949), 1129

64. SLUSHER M. und S.ROBERTS
Fate of adrenal ascorbic acid: Relationship to corticosteroid secretion.
Endocrinology 61, (1957), 98

65. SLUSHER M.A.
Dissociation of adrenal ascorbic acid and corticosteron responses to stress in rats with hypothalamic lesions.
Endocrinology 63, (1958), 412

66. SNEER A. et. al.
Study of the urinary elimination of ascorbic acid and adrenal corticoids under the influence of the administration of vitamin C in the rats.
Arch.Sci.Physiol. (Paris)22, (1968), 547

67. STARE F.J.
Überschätztes Vitamin C
Ref. im Dtsch. Ärztebl. 44, (1967), 233o

68. STUDER A.
Zur Frage der Angriffsorte von Cortison.
Bull.Schweiz.Akad.Med.Wiss. 8, (1952), 6o

69. UDENFRIEND S., C.T.CLARK, J.AXELROD und B.B.BRODIE
Ascorbic acid in aromatic hydroxylation.
I: A modell system for aromatic hydroxylation.
J.Biol. Chem. 2o8, (1954), 731

7o. WAGENER K.
Grundlagen und Grundbegriffe der Allergielehre.
Monatsh.Veterinärmed. 8, (1953), 291

71. WALKER G.H., M.L.BYROE und D.A.TYRELL
Trial of ascorbic acid in prevention of colds.
Brit.Med.J. 1, (1967), 6o3

72. WUNN W.
Das Verhalten der 17-Ketosteroide im Plasma von omnadinbehandelten Meerschweinchen bei experimenteller Salmonelleninfektion.
Inaug.-Diss.Homburg/Saar (1966)

73. ZIMMERMANN W., P.BRÜHL, E.KAISER und G.W.OERTEL
Unspezifische Abwehrvorgänge in hormonchemischer Sicht.
Z.f.Immunitätsforsch. 123, (1962), 458

74. ZIMMERMANN W.
Infektionsresistenz in endokrinologischer Sicht.
Zbl. Bakt.Orig. 167, (1957), 14o

75. ZIMMERMANN W.
Grundlagen und Möglichkeiten der Infektabwehr.
Ärztl.Forsch. 14, (196o), 427

76. ZIMMERMANN W.
Infektion, Infektionskrankheit und Infektionsresistenz als biochemische Probleme.
Dtsch.Med.Wschr. 82, (1957), 853

77. ZIMMERMANN W.
Infektion, Resistenz und Hormone.
Arzneim.Forsch. 5, (1955), 493

78. ZIMMERMANN W., H.U.ANTON und K.H.ROMMEL
Hormonbestimmung bei Infektionskrankheiten.
Zbl. Bakt.I Orig. 158, (1952), 6

79. ZIMMERMANN W.
Natürliche Resistenz und Tuberkulose.
Med.Wschr. (1959), 1o3

80. ZIMMERMANN W.
Quelques résultats obtenus par la détermination des 17-cétostéroides dans des cas de maladies infectieuses.
Ann.d'End. 12, (1951), 716

81. ZIMMERMANN W., E.KAISER, P.BRÜHL und G.W.OERTEL
Infektion und Steroide: In vitro Biosynthese und Konjugation von Steroiden bei Infektion.
Z.f.Immunitäts-u.Allergief. 128, (1965), 298

82. ZIMMERMANN W., C.SCHROEDER und W.HEESEN
Der Verlauf der kindlichen Tuberkulose im Spiegel der Steroidausscheidung.
Beitr.Klin.TBC 118, (1958), 193

83. ZIMMERMANN W. und P.BRÜHL
Die Rolle der Steroidhormone im Infektionsablauf.
Z.Hyg. 149, (1963), 194

84. ZIMMERMANN W.
Chemische Bestimmungsmethoden von Steroidhormonen in Körperflüssigkeiten.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg

85. ZIMMERMANN W.
Vitamine und Hormone
(Leipzig), 5, (1944a), 1 ff

86. HOFFMANN G.
Abriß der Laboratoriumstierkunde
Gustav-Fischer-Verlag, Jena (1961)

Herrn Prof. Dr. Dr. W. Zimmermann danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die Beratung bei der Durchführung der Experimente, die Anregungen im Rahmen der Doktorandenkolloquien sowie die Verbesserungsvorschläge bei der Durchsicht der Arbeit.

Lebenslauf

Am 11.4.1943 wurde ich, Oskar Stierkorb, als zweites Kind des Bauingenieurs Eberhard Stierkorb und seiner Ehefrau Else, geb. Schulze, in Erxleben geboren. 1946 zogen wir nach Ellwangen/J. um. Von 1949 bis 1953 besuchte ich die dortige Volksschule. 1953 wechselte ich auf das Peutinger-Gymnasium Ellwangen über, an dem ich 1963 im neusprachlichen Zweig die Reifeprüfung ablegte.

Während des anschließenden zwölfmonatigen verkürzten Grundwehrdienstes nahm ich an Lehrgängen für den Krankenpflegedienst und an der Reserveoffiziersausbildung teil. Im Sommersemester 1964 begann ich das Medizinstudium an der Universität des Saarlandes, das ich im Dezember 197o mit dem Staatsexamen beendete. Während des Studiums, im Jahre 1968, führte ich im Institut für Hygiene und Mikrobiologie den experimentellen Teil dieser Arbeit durch.